FPLC
（GP250 Plus コントローラーシステム）

取扱説明書

FPLC（GP250 Plus コントローラーシステム） 取り扱い説明書

ページ数

目次

1 章　FPLC のセットアップ　1
1-1. 配線と配管の確認　1
1-1-1. ポンプ、ミキサーのコントロール　1
1-1-2. レコーダー、フラクションコレクターのコントロール　2
1-1-3. 配管　3
1-2. 電源の入力　4
1-3. 各コンポーネント別の準備　4
1-3-1. ポンプの準備　4
1-3-2. UV モニターの準備　5
1-3-3. レコーダーの準備　6
1-3-4. フラクションコレクターの準備　7
1-3-5. コントローラーの準備　10
1-4. 電気的接続のチェック　12

2 章　クロマトグラフィーを始める前に　15
2-1. システム洗浄　15
2-2. カラムの接続とカラムの洗浄　16
2-3. バッファー交換　16
2-4. カラムの平衡化　17

3 章　メソッドプログラミング　18
3-1. プログラムの考え方　18
3-2. メソッドの作成　19
3-2-1. モードの設定　19
3-2-2. メソッドの保存場所の指定　19
3-2-3. メソッドの作成　20
3-2-4. メソッドの編集　23

4 章　メソッドの実行　25
4-1. 実行前の確認　25
4-1-1. UV モニターのゼロ調製　26
4-1-2. サンプルの添加　26
4-1-3. フラクションコレクター　26
4-1-4. その他の注意事項　26
4-2. メソッドの実行　26

5 章　実習例　27

付録
付録 1　LCC 501 Plus タッチパネル　28
付録 2　Method File ブロック　31
付録 3　Calibration ブロック　36
付録 4　Manual ブロック　39
付録 5　Evaluation ブロック　41

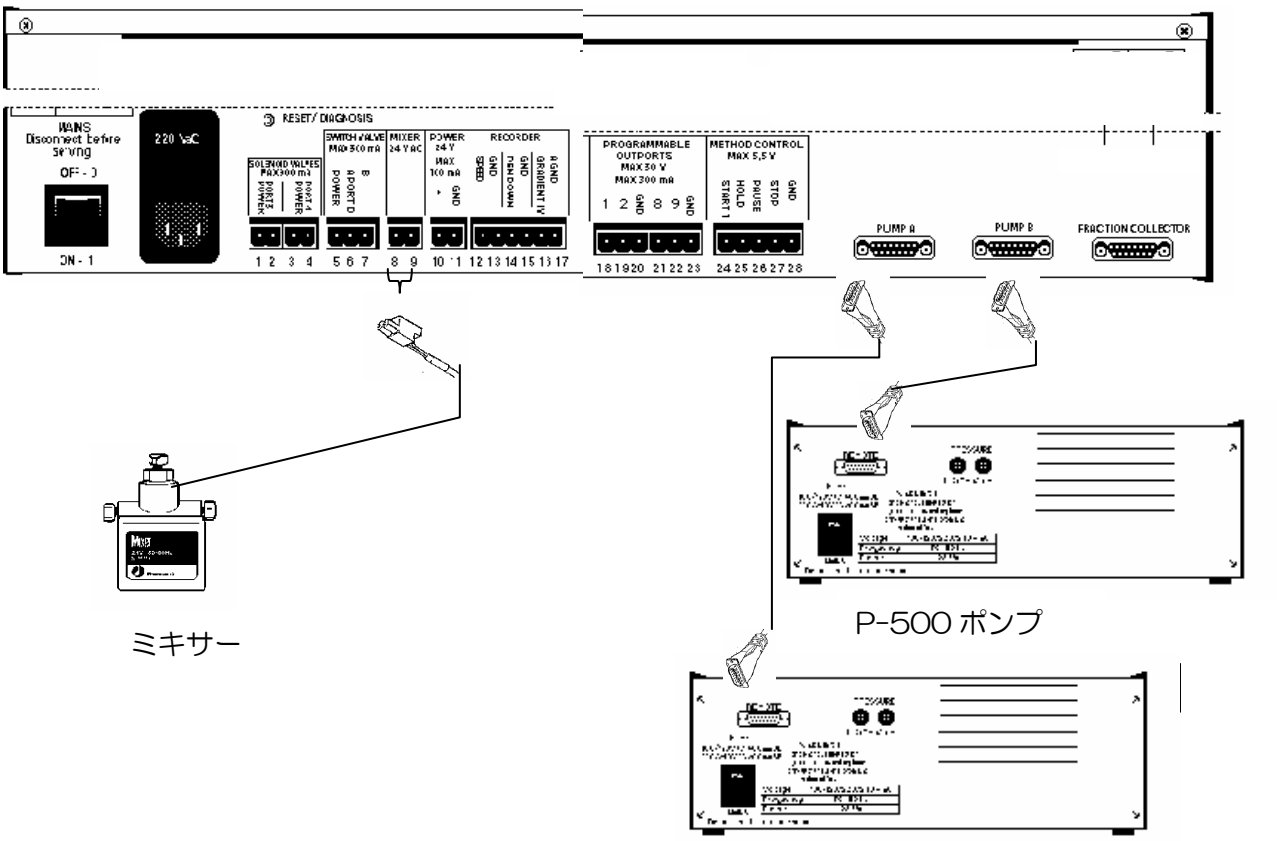
1章 FPLCのセットアップ

1－1 配線と配管の確認

1-1-1. ポンプ、ミキサーのコントロール

- ポンプの“REMOTE”とコントローラーの“PUMP A”，“PUMP B”を
  コミュニケーションケーブル（ コード番号： 19-6005-02）でそれぞれ接続する
- ミキサーについているケーブルをコントローラーの“MIXER”に接続する

GP 250　Plus コントローラー



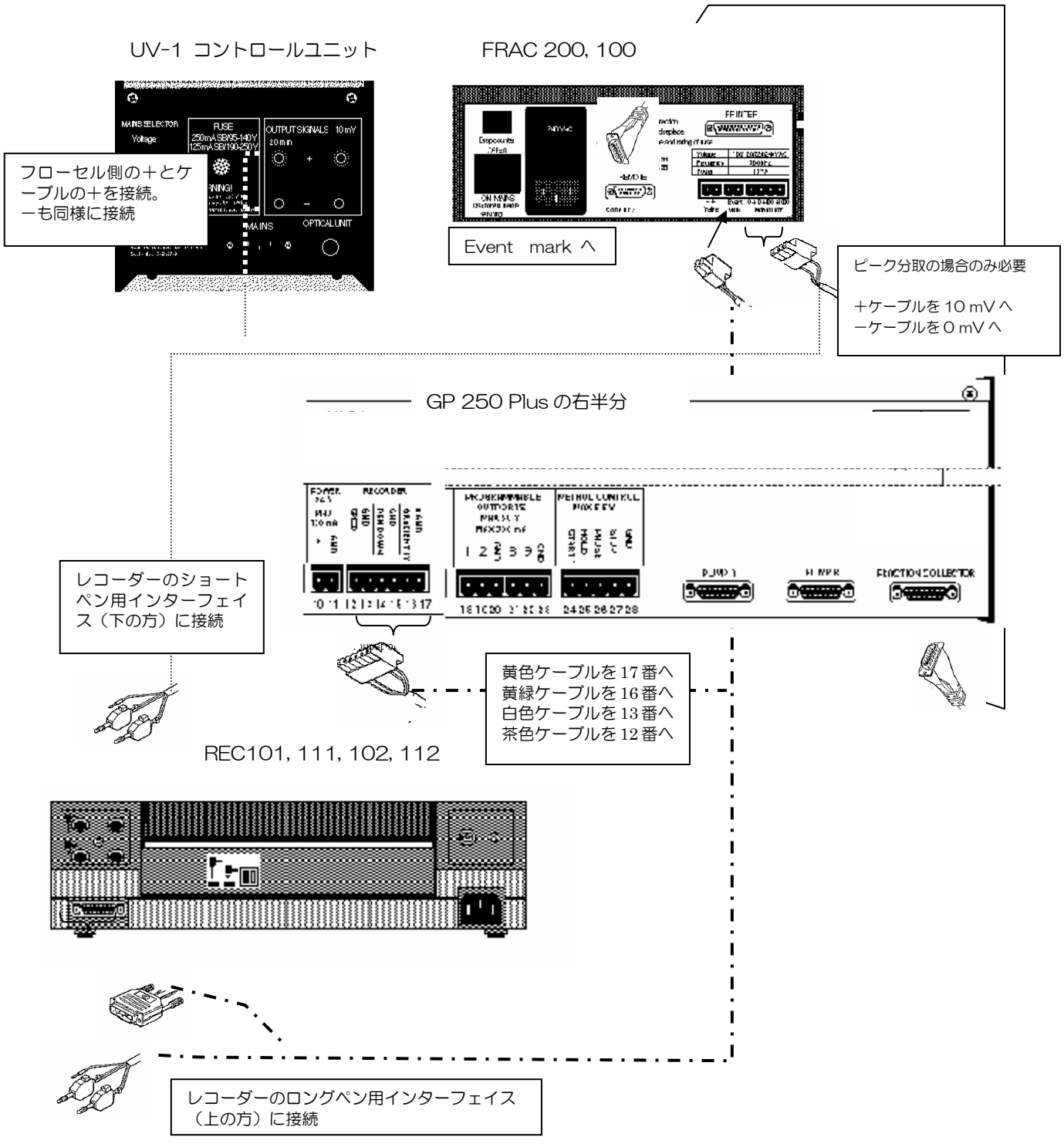
ミキサー

P-500 ポンプ

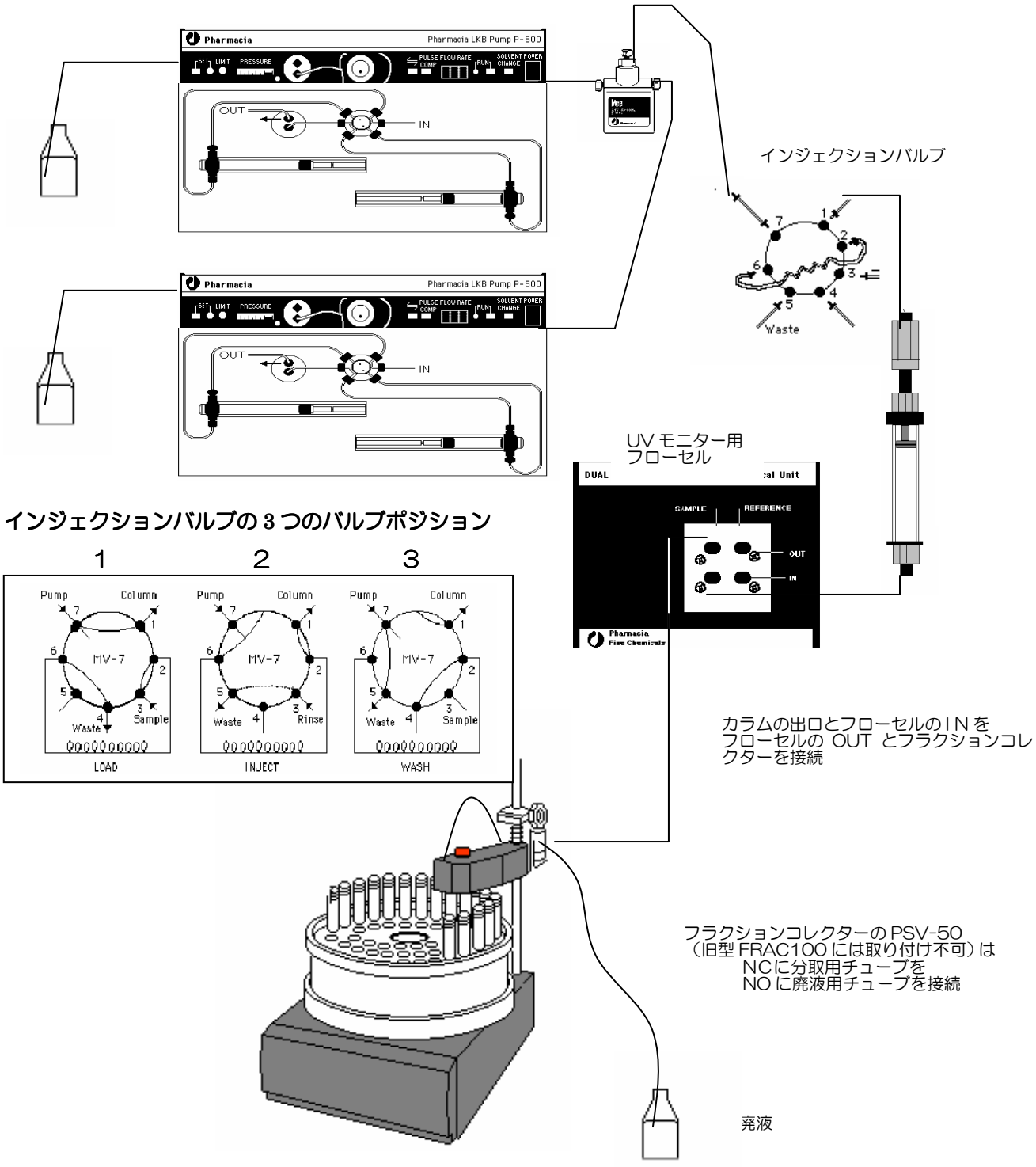
P-500 ポンプ

1-1-2. レコーダー (REC101, 111, 102, 112)、フラクションコレクター(FRAC 100, 200)のコントロール

・フラクションコレクター、コントローラー、レコーダーを接続する（ 太い点線で示す）ことによりポンプBの稼働率をレコーダーの赤ペン（ロングペン）で書くことができる
・モニター、レコーダー、フラクションコレクターを接続する（点線で示す）ことにより、UVモニターの信号をレコーダーの青ペン（ショートペン）で書くことができ、フラクションコレクターの分取番号を青ペンに出力することができる



1-1-3. 配管


Pharmacia
Pharmacia LKB Pump P-500
SET
LIMIT
PRESSURE
PULSE FLOW RATE COMP
RUN
SOLVENT POWER CHANGE
OUT
IN
インジェクションバルブ
Waste
UV モニター用
フローセル
DUAL
SAMPLE
REFERENCE
OUT
IN
Pharmacia
Fine Chemicals
インジェクションバルブの 3 つのバルブポジション
1
2
3
Pump
Column
MV-7
Waste
Sample
Rinse
LOAD
INJECT
WASH
カラムの出口とフローセルの IN を
フローセルの OUT とフラクションコレクターを接続
フラクションコレクターの PSV-50
（旧型 FRAC100 には取り付け不可）は
NC に分取用チューブを
NO に廃液用チューブを接続
廃液

1-2. 電源の入力

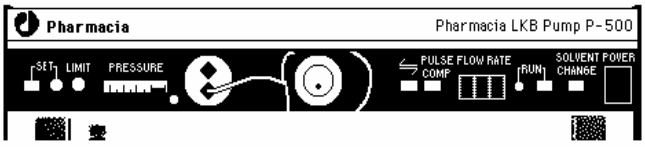
UV モニター → レコーダー → ポンプ →フラクションコレクター → コントローラー（Director システム使用の場合はさらに→プリンタ＆モニター →コンピュータ本体）
電源を切る順番は入力と逆の順番で行います。

1-3. 各コンポーネント別の準備

1-3-1. ポンプの準備

ポンプ P-500

RUN ボタンを ON にし、赤いランプが点灯するか確認する



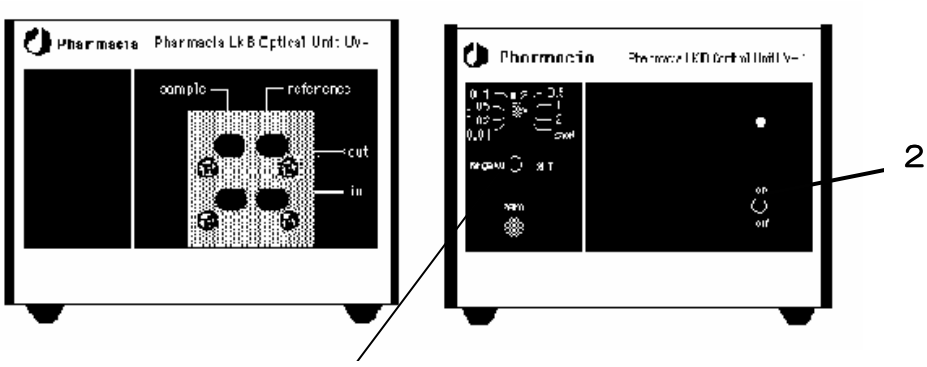
1-3-2. UV モニターの準備

UV-1 の場合

1. オプティカルユニットとコントロールユニットを接続する（裏パネル）
2. コントロールユニット表パネルの ON/OFF スイッチを入れる
3. 使用波長のフィルターとコンバーターをセットする
4. モードスイッチを AU にする

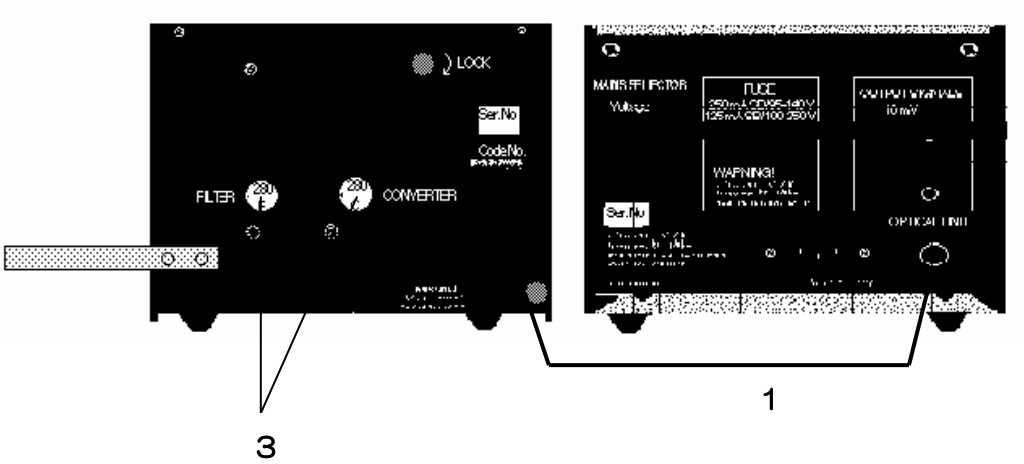
表パネル

オプティカルユニット　　コントロールユニット



裏パネル

オプティカルユニット　　コントロールユニット

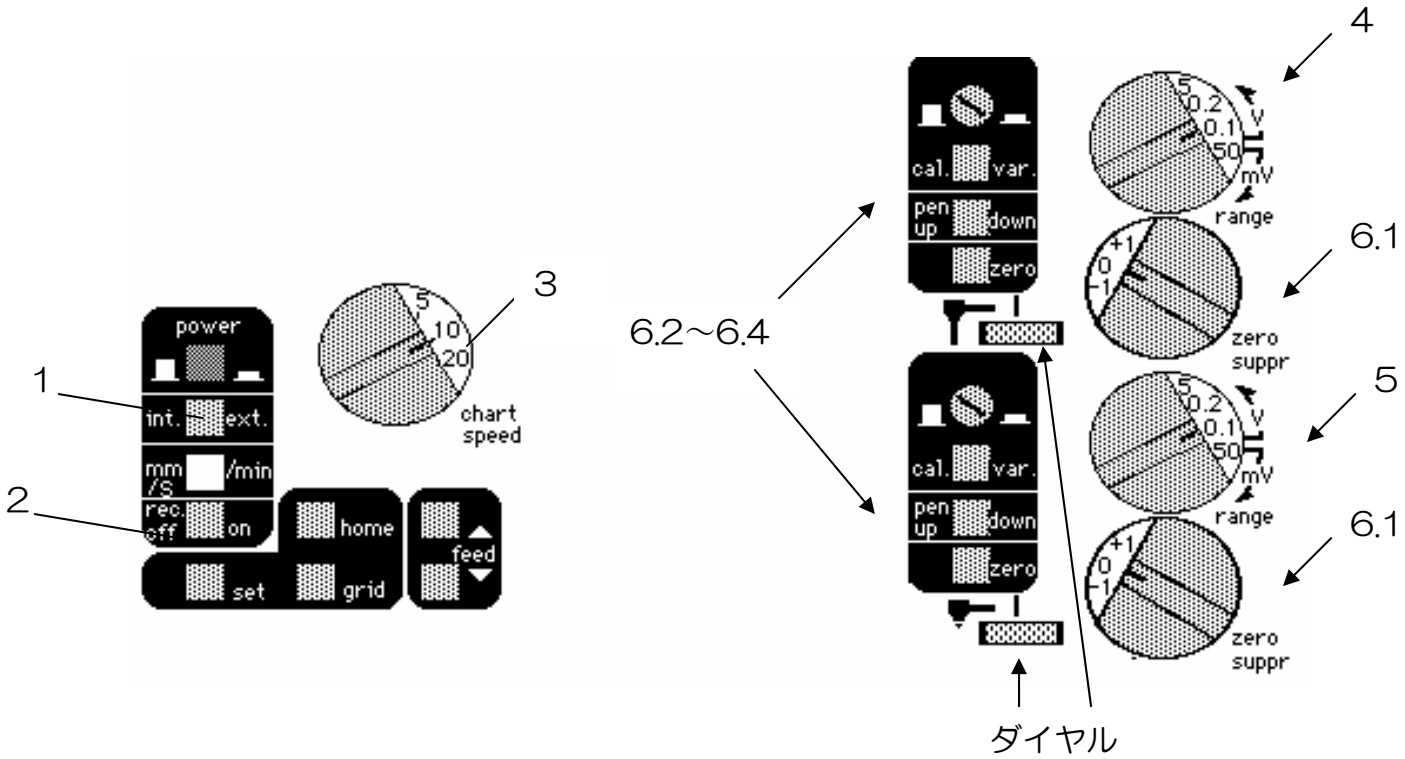


1-3-3. レコーダーの準備

REC102,112 の場合

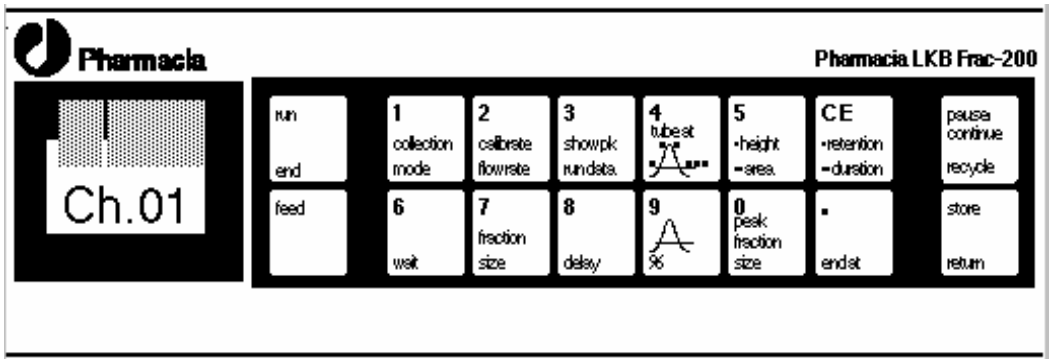
1. 左脇にあるメイン電源をONにし、int/extボタンを押しextの状態にする。
2. Rec OFF/ON ボタンを押して ON の状態にする
3. Chart Speed は最大に設定する。（20mm/sec）
4. 赤ペン（ロングペン）の入力レンジの設定
   1V（ポンプ B%出力）
5. 青ペン（ショートペン）の入力レンジの設定
   10mV（UV-1）
6. 青ペン、赤ペン共通の設定
   - 6.1 Zero Suppr ダイヤルは 0 に設定
   - 6.2 Cal/Var ボタンは Cal に設定
   - 6.3 Pen up/down ボタンは down に設定
   - 6.4 Zero ボタンを押し、ダイヤルを使用してペンのゼロ位置を設定。
     設定終了後に Zero ボタンを解除する。

     通常は青ペンはチャート紙の 10 に、赤ペンは 0 に設定します。



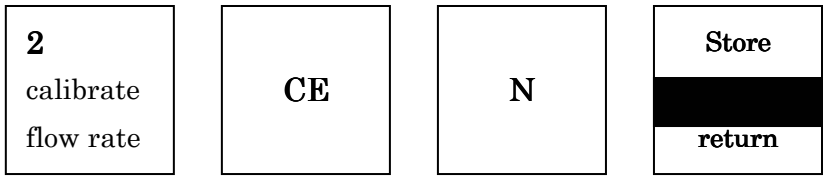
1-3-4. フラクションコレクターの準備

FRAC100，200



本体裏右端のメイン電源を ON にする

1. ポンプ検量値の入力（drop，min モードで使用する場合は必要ありません。）



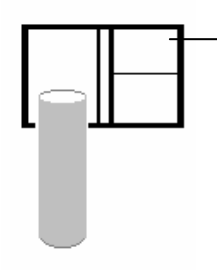
N は P-500 ポンプ使用の場合、110 をいれてください。

2. 試験管の準備

使用する試験管の長さに応じてチューブラック中のチューブホルダ、チューブガイドの位置を調節する。

＊ ボウルを外したり、回したりする際にはフラクションコレクター本体の右または左奥にあるドライブスリーブを向こうへ引っぱり、ボウルの押えを外してください。

3. 分取アームとチューブラックの位置調節



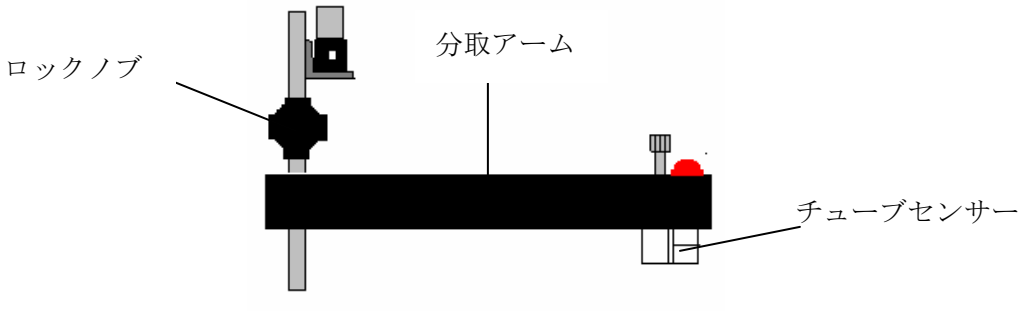
①試験管がチューブセンサーの縦線より右側になるように、チューブラックを回す。

②試験管の上部がチューブセンサーの横線より 5mm 以内の高さになるよう、分取アームを調節する。

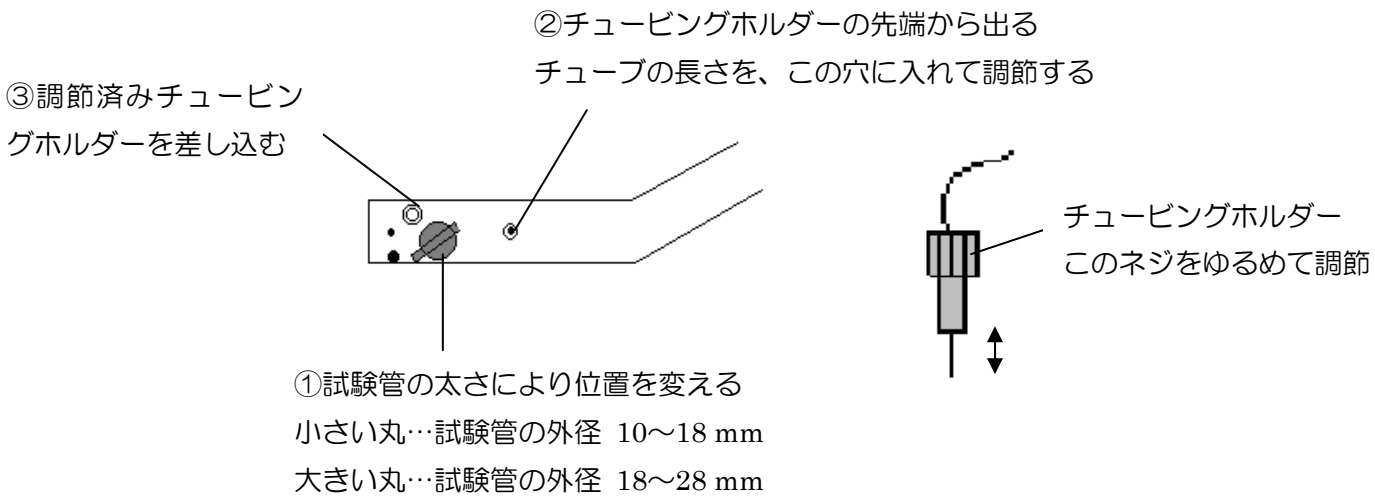
分取アームの高さの調節は、使用する試験管の高さにあわせてロックノブを回す。

＊ 分取アームの移動

向こう側に動かしたい場合はそのまま押す。こちら側へ動かしたい場合は、いったん持ち上げる。

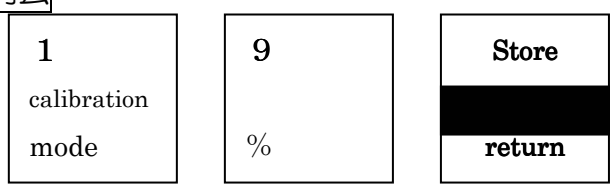


4. チュービングの調節



5. プログラミング

メモリー消去



＊ ポンプ検量値以外のパラメーターが消去されます

分取モードの選択

LCC501Plus の Cali モードで設定するベースと同じにします。（通常は ml モードにします。）

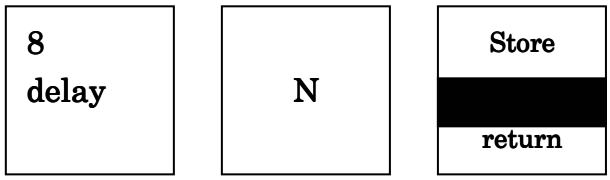
モード	分取法	操作
時間	定量分取	1 → 0 →Store/return
	ピーク分取	1 → 1 →Store/return
容量	定量分取	1 → 2 →Store/return
	ピーク分取	1 → 3 →Store/return
ドロップ	定量分取	1 → 4 →Store/return
	ピーク分取	1 → 5 →Store/return

＊ドロップモードは FRAC200 のみ可能です。

ディレイ入力

ディレイはクロマトグラムのイベントマークの位置と試験管へ入る実際の液の流れとを一致させるために設定します。
ディレイ体積は UV モニターのフローセルとフラクションコレクターの分取チューブまでの体積と等しい値になります。

内径 0.8 mm のチューブ：502.65μl/m
内径 1.2 mm のチューブ：1.13 ml/m

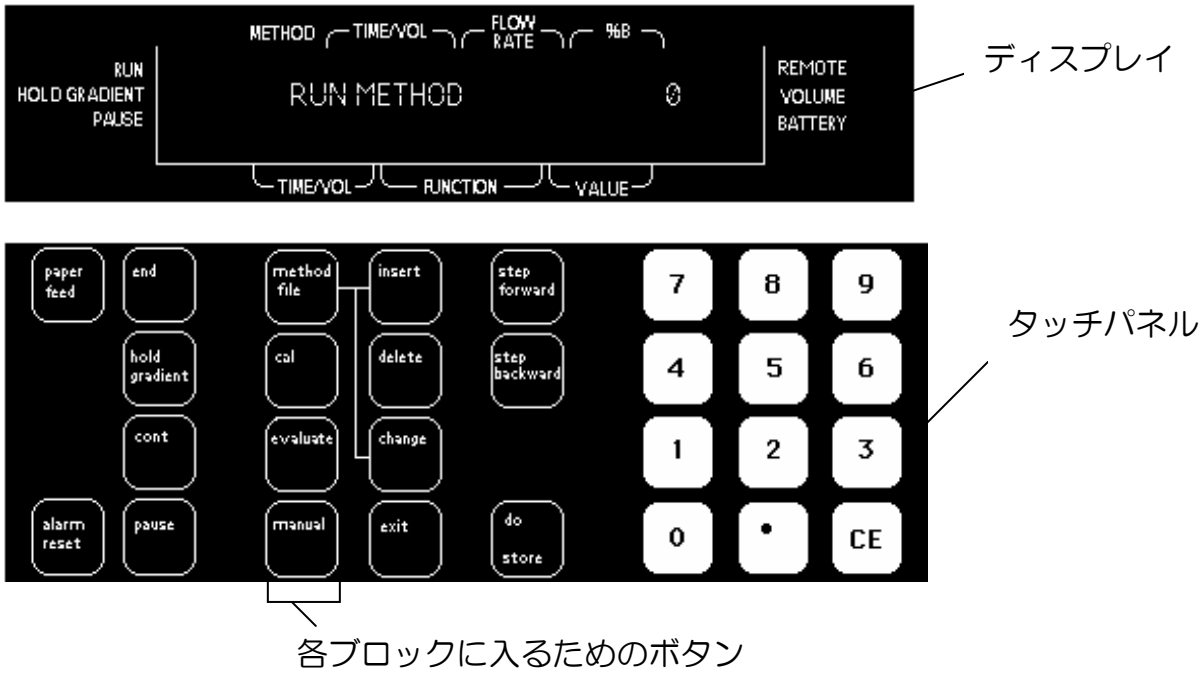


オプションパラメータの入力　必要なら入れてください

オプション内容	操作内容
分取待機	6 → N →Store/return
ピーク閾値	9 → N →Store/return
ピーク分画サイズ	0 → N →Store/return
自動停止	End at → N →Store/return

1-3-5. コントローラーの準備

GP 250 Plus



FPLC を操作するには４つのブロックを使用します。

ブロック名	ボタン名	何をするところか？
Method File	Method File ボタン	メソッドプログラム作成、編集、プリントアウトなど
Calibration	Cal ボタン	各コンポーネントの検量値の入力
Evaluation	Evaluation ボタン	結果の解析
Manual	Manual ボタン	マニュアル操作

使用前に Calibration ブロックで各コンポーネントの検量値を入力します。この値は、一度入力すれば変更の無い限り毎回入力する必要はありません。
また、システムが作動しているときに検量値を変更することはできません。

Cal ボタンを押し、Calibration ブロック内に入ります。
ブロック内に入ったら、Step Foward ボタンまたは Step backward ボタンで表示を変えます。

↓

表示	意味
Min.0　ML.1　DL.2	クロマトグラムのＸ軸の単位。
↓	ＭＬにするのが妥当。DL モードはＰ-500 では使用不可 ML にするとディスプレイの Volume の横のランプが赤く点灯する
PUMP CAL AB	ＡＢポンプの検量値（0.1 ml 送液するのに必要なパルス数）を入力。下記の中から選ぶ
↓	通常は P-500 ポンプを使用する P-500：　　110
REC CAL	レコーダーの検量値（チャート紙を 1 cm 進めるのに必要なパルス数）を入力
↓	弊社のレコーダーはすべて 200

通常の使用で設定するのはここまでです。

1-4. 電気的接続のチェック

コントローラーからのマニュアル操作によって、作動の確認を行います。
ポンプ作動チェックを行いますので、この作業の前には溶液がこぼれないようにあらかじめ適切な配管を行っておき、カラムは外しておいてください。
フラクションコレクターには、試験管を数本いれておきます。

Manual ボタンを押し、Manual ブロック内に入ります。

↓

A ポンプ作動のチェック

CONC %B 0.0

↓ Step Foward ボタン

ML/MIN　0.0　　5 、do/store ボタンを押す

↓　　Aポンプが流速 5 ml/min で作動しているかを確認します。

B ポンプ&レコーダー赤ペン作動のチェック

↓ Step backward ボタン×２回

CONC %B 0.0　　100、do/store ボタンを押す

↓　　① B ポンプが流速 5 ml/min で作動するか確認します。
② レコーダーの赤ペンにBポンプの稼動率を出力する場合には、赤ペンが振り切れているか確認します。

レコーダー紙送りのチェック

↓ Step Foward ボタン×１回

CM/ML　0.0　　5 、do/store ボタンを押す

↓　　レコーダーの紙送りがなされるかを確認します。

↓Step backward ボタン×１回

CM/ML　5.0　　0 、do/store ボタンを押す

レコーダーの紙送りが停止するかを確認します。

フラコレ作動、レコーダーへのイベントマーク信号のチェック

PT 000000000　0.0　　6.1、do/store ボタンを押す

↓　① フラクションコレクターのボウルが作動するか

② フラクションコレクターに PSV-50 バルブを使用している場合には、流路が切れ変わって、フラクションチューブに液が流れてくるかを確認します。

③ フラクションコレクターのチューブが動くときに、レコーダーの青ペンが上下に動いて、イベントマークが入るかを確認します。

↓Step backward ボタン×１回

PT 000001000　0.0　　6.0、do/store ボタンを押す

フラクションコレクターの作動が停止するかどうか確認します。

END ボタンを押します。

UV モニター信号の入出力のチェック

（フラクションコレクターでピーク分取をする際にのみ必要です。）
UV モニターで検出されるシグナルは電気信号としてレコーダー、フラクションコレクターに入ります。
UV モニターのシグナルを変えたときに、各コンポーネントので受け取る値が一致するかどうかを確認します。

フラクションコレクターの設定

5 height area

を押すと、フラクションコレクターが現在モニターから受け取っている信号をフラクションコレクターの前面パネルに表示することができます。

確認作業

UV モニターのシグナルを変えるために、フローセルを動かしてください。

・UV-1, 2 の場合：オプティカルユニット背面のノックを回すと、フローセルが動きます

コントローラーとフラクションコレクターのディスプレイの値、青ペンが記録紙のどの位置にあるかで、設定したフルスケールに対してどのくらいの値になっているかを確認します。

チェックが終わったら…
UV モニターのフローセルをもとに戻す
フラクションコレクターは RUN/END ボタンを押す

ミキサーの作動チェック

ミキサーは LCC-501 Plus の電源投入と同時に作動するのでモーターの回転による振動があるかどうか、直接ミキサーに手を触れて確認します。

2章 クロマトグラフィーを始める前に

2-1. システム洗浄

FPLC システムの配管は 20 %エタノールを満たした状態で保存しますので、はじめにシステム全体を超純水で洗浄します。

ポンプのみの洗浄

ポンプA，Bに超純水の入ったボトルをつなぎます。

① インジェクションバルブを Wash（3 番）の位置にする

② Manual ブロックに入り、Step Forword ボタンを 4 回押して、
Wash AB 0.0 を表示し 1.1 ， do/store
洗浄には5分間、超純水は約 35 ml が必要です。

③ 終了し Wash AB 0.0 の表示に戻ったら、インジェクションバルブを LOAD（1 番）に戻す

システム全体の洗浄

① Manual ブロックに入り
CONC %B 0.0 で 50 ， do/store
ポンプ AB 両方とも使用します。

② ML/MIN 0.0 で 1 ， do/store
流速を設定します。

③ Step Forword ボタン×1 回
PT 000000000 0.0 で 6.1 ， do/store
フラクションコレクターの分取用チューブを洗浄します。

④ インジェクションバルブを手動で LOAD（1 番）、INJECTION（2 番）にして流路を変え、バルブ擦りあわせ部分を洗浄します。

⑤ END ボタンで終了

2-2. カラムの接続とカラムの洗浄

耐圧の設定

P-500 ポンプを使用している場合は、使用するカラムの耐圧をポンプの耐圧に設定します。

カラムの接続と洗浄

気泡がカラムに入らないように、低流速で溶液を流しながら接続します。

Manual ブロックに入り、Step Forword ボタン×１回

① ML/MIN　0.0　で 0.5 ，do/store

カラムの接続が終了したら、洗浄を行います。

② Step Backword ボタン×１回

ML/MIN　0.0　で X ，do/store

Xはカラムの至適流速にします。

カラム体積の 3～5 倍の溶液を送液します。

END ボタンで終了

2-3. バッファー交換

ポンプA，Bにそれぞれ結合バッファー、溶出バッファーをつなぎ、
インジェクションバルブを WASH（3 番）にし、
Manual ボタンで Manual ブロックに入り、
Step Forword ボタン×４回
Wash AB　0.0　で 1.1 ，do/store　表示が Wash AB 0.0 になったら終了です

注意！！

カラムを装着した状態でのバッファー交換のときには必ずインジェクションバルブの位置を必ず **WASH（3 番）にして行ってください**。

・WASH を行うと、最高流速で溶液が流れるため、インジェクションバルブが 1 番（LOAD）のままではカラムに溶液が流入し、圧力が上昇します。

もし、圧力が上昇してアラームがなる場合には、
コントローラーのディスプレイに“Ch 06”または“Ch 07”と点灯する
P-500 ポンプ前面の左上側 の Limit ボタンが点灯する
という状況になるので、ポンプの SET ボタン（Limit の左横）を押して Limit を解除後、コントローラーの alarm reset ボタンを押してアラームを解除します。

2-4. カラムの平衡化

Step Backword ボタン×3 回

ML/MIN 0.0 で X ， do/store

Xはカラムの至適流速にします。

カラム体積の 3~5 倍の溶液を送液します。

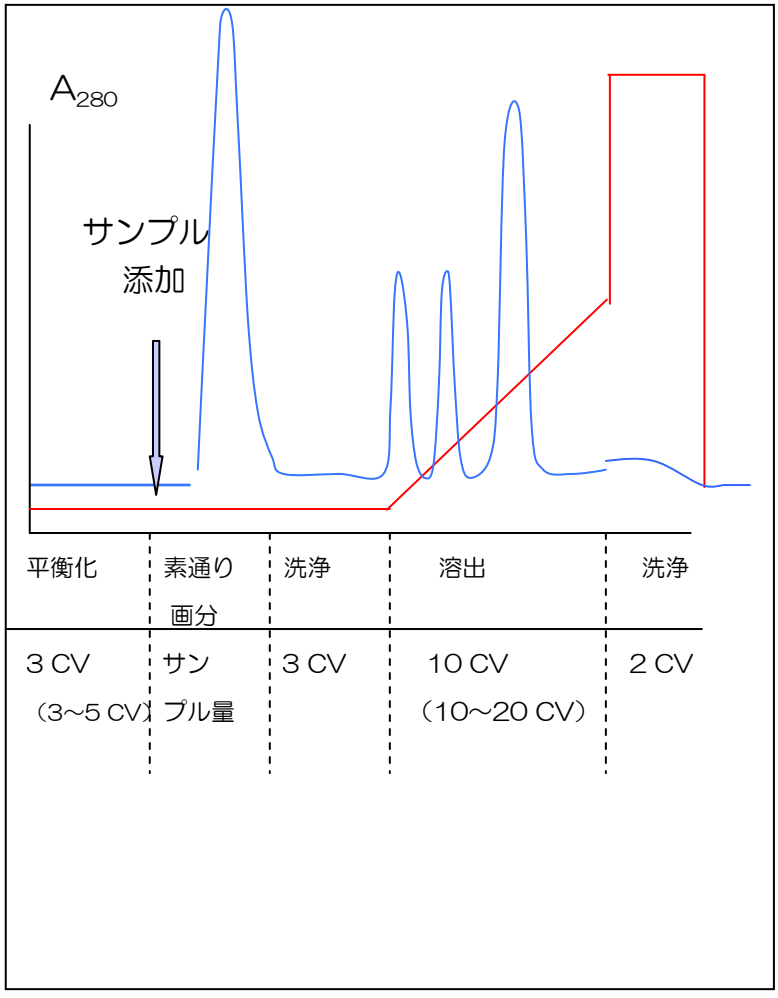
UV モニターの値が安定しているかどうか確認してください。

END ボタンで終了

3章 メソッドプログラミング

3-1. プログラムの考え方

クロマトグラフィーでは、カラムの平衡化、溶出などをカラム体積を基準にして、その何倍量の溶液を流したら良いかを考えます。よって、メソッドを作成する場合には、容量モード（ml）をお勧めします。



容量モードの利点

①. メソッドを実行している途中でマニュアル操作で流速を変更した場合も全溶出容量に変化が無く、チャート送りのスピードを変更する必要が無い

②. スケールアップを行う場合に条件が一定である

左図　　イオン交換クロマトグラフィーを行う場合に必要なカラム体積（CV=カラム体積）。

3-2. メソッドの作成

3-2-1. モードの設定

Calibration ブロックでモードの設定を行います

Cal ボタンを押してブロック内に入ります。

Min.0　ML.1　DL.2

ML にするのが妥当なので、1 を入力後 do/store ボタンを押す。

3-2-2. メソッドの保存場所の指定

Method File ブロックで作成するメソッドを保存するバンクとメソッド番号を指定します。Method File ボタンを押してブロック内に入ります。

0.1.2.3.4.5.6.7.8.9.　B1

バンクの選択を行います

B の後の番号はバンク No を示します。

バンク番号(1～5)を入力後、do/store ボタンを押してください。

FPLC システムでは 5 つのバンク（B1～5）にそれぞれ 10 つ（0～9）のメソッド（計 50 個）を作成することができます。

選択したバンク内のメソッド番号（たとえば、2,7 番が既に使用されている場合には.

0.1. .3.4.5.6.　.8.9.　B1 のように使用されている番号は表示されません。

↓Step Foward ボタン×2 回

PROGRAM　METHOD

選択済みバンク中のメソッド番号を選択します

メソッド番号(0～9)を入力後、do/store ボタンを押してください。

・既に使用しているメソッド番号（0.1.2.3.4.5.6.7.8.9.　B1 ディスプレイ画面で消えているメソッド番号）を選択した場合

メソッド内容が最初から 1 つずつ示されるので、メソッドの編集を行う（p23 を参照）

・未使用のメソッド番号を選択した場合

メソッドの作成が可能（p20～を参照）。

3-2-3. メソッドの作成

メソッドの保存場所の指定を行うと、ディスプレイ表示下のように変わります。点滅部分に必要な値を入力していきます。

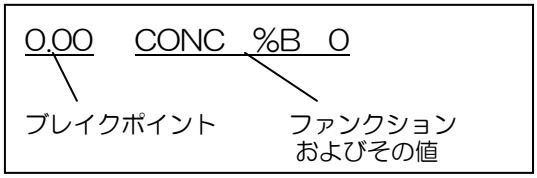
a) 入力方法

はじめにブレイクポイントが点灯しているので、これを入力する（表示されている値と自分が入力したい値が同じであれば、入力は必要ありません。）

↓

ファンクションが点灯するので、表示されているファンクションと自分が入力したいファンクションが同じであれば､値のみを入力し do/store ボタンを押す。

違う場合は、Step Forward ボタンまたは Step backward ボタンで表示するファンクションを変更した後、値を入力し do/store ボタンを押します。



b)ブレイクポイントの入力

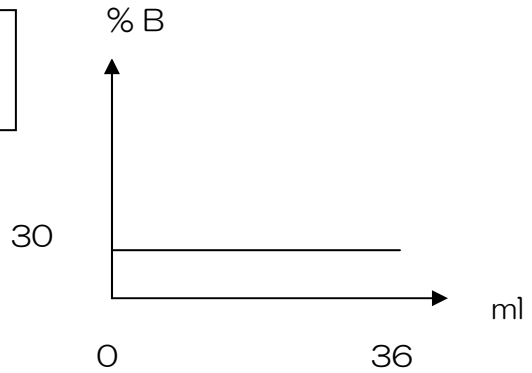
LCC 501Plus コントローラーのメソッドは、２つ以上のブレイクポイントを入力することにより設定できます。ブレイクポイントは、CONC %B を入力して決めます。異なるブレイクポイントを設定すると、メソッドはブレイクポイントからブレイクポイントへ、設定時間（容量）にしたがって、B溶液の直線グラジェントを作成しながら進行します。よって、基礎となるグラジェントの溶出型を考えて、ブレイクポイントを一気に入れます

① イソクラティック溶出

ゲルろ過クロマトグラフィーで用いられる溶出方法。CONC %B の値は常に一定であるので、最初と最後のブレイクポイントを入力する。

例　30%のB溶液で 1.5 カラム体積の溶出を行う場合
使用するカラムは 24 ml のカラム

0.0	CONC %B	30.00
36.00	CONC %B	30.00



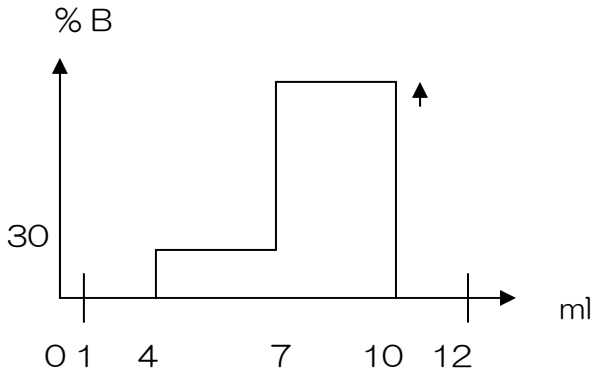
② ステップワイズ溶出

吸着クロマトグラフィーで用いられる溶出方法

例　1ml のイオン交換クロマトグラフィー用カラムで、1ml のサンプルを添加する

考え方　0%のB溶液でサンプル量（素通り画分）→0%のB溶液で3カラム体積（洗浄）→30%のB溶液で3カラム体積→ 100%のB溶液で 3 カラム体積（以上2ステップワイズで溶出＆カラム洗浄）→ → 0%のB溶液で 2 カラム体積（カラム再平衡化）

```
0.00    CONC %B   0.00
1.0     CONC %B   0.00
4.0     CONC %B   0.00
4.0     CONC %B   30.00
7.0     CONC %B   30.00
7.0     CONC %B   100
10.0    CONC %B   100
10.0    CONC %B   0.0
12.0    CONC %B   0.0
```



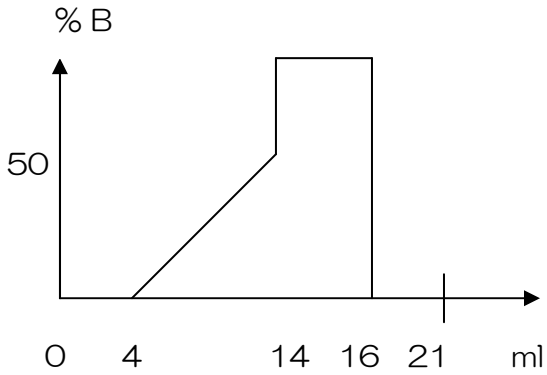
③ グラジェント溶出

吸着クロマトグラフィーで用いられる溶出方法

例　1ml のイオン交換クロマトグラフィー用カラムで、1ml のサンプルを添加する

0%のB溶液でサンプル量（素通り画分）→ 0%のB溶液で3カラム体積（洗浄）→ 0～100%のB溶液で 10 カラム体積（グラジェント溶出）→ 100%のB溶液で 2 カラム体積（カラム洗浄）→ 0%のB溶液で 2 カラム体積（カラム再平衡化）を行う

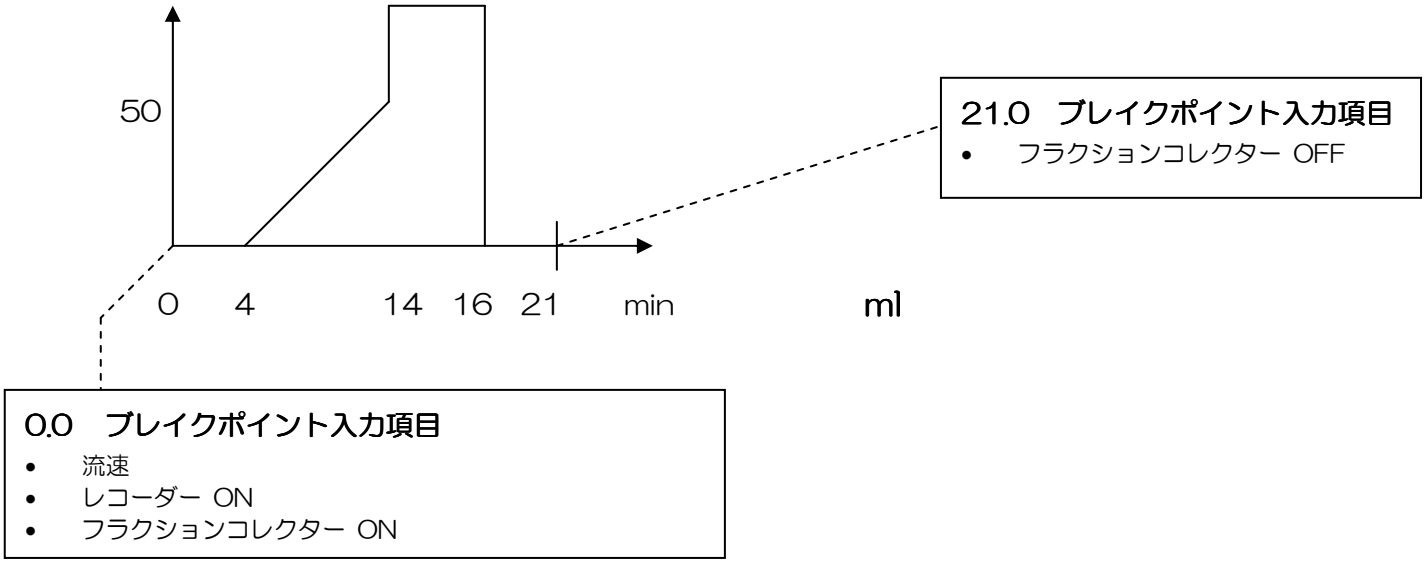
```
0.00    CONC % B    0.0
4.00    CONC % B     0.0
14.0    CONC % B    50.0
14.0    CONC % B    100
16.00   CONC % B    100
16.00   CONC % B    0.0
21.00   CONC % B    0.0
```



c)その他の項目の入力

流速、レコーダー、フラクションコレクターなどに関する命令を入力していく方法をお勧めします。

以下にメソッド例とどのタイミングでどの命令を入れれば良いかを示します。



メソッド例（p22, ③の溶出グラジェントのブレイクポイントに追加）

部分をコントローラーの Insert キーを使用して（p24 参照）追加する。（もちろん上から順番に一気に入力しても問題ありません）

0.00	CONC % B	0.0
0.00	ML/MIN	1.00
0.00	CM/NIN	0.5
0.00	PORT SET	6.1
4.00	CONC % B	0.0
14.0	CONC % B	50.0
14.0	CONC % B	100.0
16.00	CONC % B	100.0
16.00	PORT.SET	6.0
16.00	CONC %B	0.0
21.00	CONC %B	0.0

3-2-4．メソッドの編集

a) 確認のためメソッドをプリントアウトする

Method File ボタンを押してブロック内に入ります。

↓Step Foward ボタン×2 回

LIST　METHOD　メソッド番号を指定し、do/store ボタンを押す

b) 変更を行うためにメソッド内に入り、メソッド内容を表示させる

↓Step backward ボタン×1 回

PROGRAM METHOD　メソッド番号を指定し、do/store ボタンを押す

Step Foward 、Step backward ボタンを使用して、変更を行いたい箇所(ステップ)を表示する

c) LCC 501 Plus コントローラーのタッチパネルを使用して、編集を行う

insert	delete	change

① insert　ステップの挿入を行う（1 度に複数行可能）

例 0.00　CONC %B 0.0 ← 2.00　VALVE. POS 1.1

5.00　CONC %B 0.0

＊灰色文字は、点滅を示します

操作	ディスプレイ表示
目的のステップを表示する	0.00　CONC %B 0.0
Insert ボタンを押す	0.00　CONC %B 0.0
2.0、do/stpre ボタンを押す	2.00　CONC %B 0.0
Step　Forward ボタンで VALVE. POS に進める	2.00　VALVE. POS 0.0
1.1、do/stpre ボタンを押す	2.00　VALVE. POS 1.1
exit ボタンを押す	

② delete　ステップの削除を行う（１行のみ）

例　0.00　CONC %B 0.0
　　2.00　CONC %B 0.0　←――― この行を削除
　　5.00　CONC %B 0.0

＊灰色文字は、点滅を示します

操作	ディスプレイ表示
目的のステップを表示する	2.00　CONC %B 0.0
Delete ボタンを押す	2.00　CONC %B 0.0
do/stpre ボタンを押す	5.00　CONC %B 0.0 （次の行が表示される）
exit ボタンを押す	

② change　ステップのブレイクポイント、ブレイクポイント値の変更を行う（ファンクションの変更はできない。１行のみ）

例 0.00　CONC %B 0.0 ⟶ 2.00　CONC%B 50.0

＊灰色文字は、点滅を示します

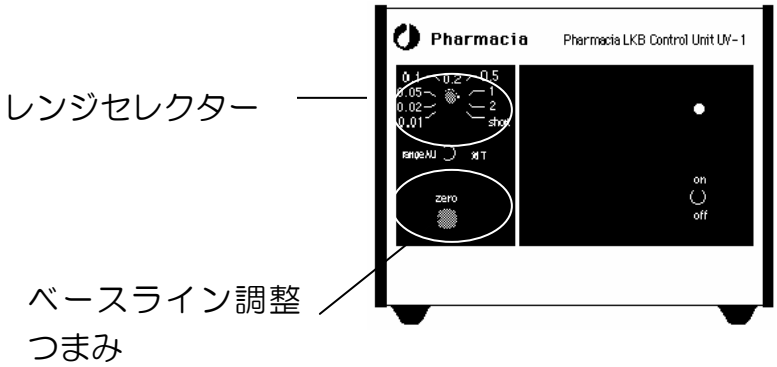
操作	ディスプレイ表示
目的のステップを表示する	0.00　CONC %B 0.0
change ボタンを押す	0.00　CONC %B 0.0
2.0、do/stpre ボタンを押す	2.00　CONC %B 0.0
50.0、do/stpre ボタンを押す	2.00　CONC %B 50.0
exit ボタンを押す	

4章 メソッドの実行

4-1. 実行前の確認

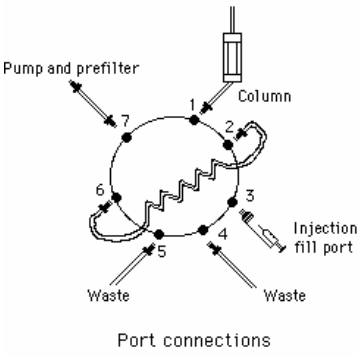
4-1-1. UVモニターのゼロ調整

UV-1 の場合



① バッファーを送液し、UV モニターの値が安定していることを確認する
② レンジセレクターを Short にし、レコーダー青ペンのゼロ調整を行う
③ レコーダー青ペンのゼロボタンを解除した後、UV-1 のレンジセレクターを２にし、レコーダー青ペンのベースラインが①で調整した位置になるよう、ベースライン調整つまみで合わせる。
④ レンジセレクターを目的のレンジに合わせて、再び②の操作をおこなう（ほんの少し動かすだけで十分）

4-1-2. サンプルの添加



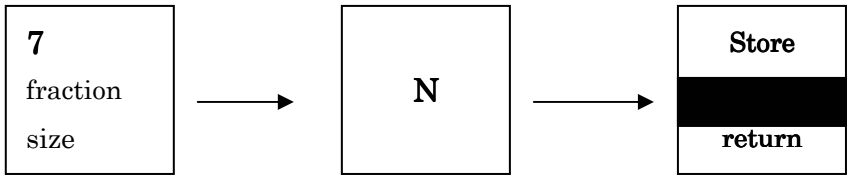
Port connections

サンプルループをインジェクションバルブの２番と６番に装着し、３番からシリンジでＡバッファー → Ｂバッファー → Ａバッファーの順番に洗浄した後、サンプルをサンプルループの中にためます。（シリンジはさしたままにしておきます）

4-1-3. フラクションコレクター

分画サイズの入力方法

フラクションコレクター前面のパネルで



Nはフラクションサイズを入力します。

4-1-4. その他気を付けること

カラムの平衡化は終了しているか？

フラクションコレクターには試験管を用意しているか？

P-500 ポンプ使用の場合、カラムの耐圧を設定したか？　など。

4-2. メソッドの実行

コントローラーのディスプレイに RUN METHOD と表示されていることを確認し、作成したメソッド番号を入力する。do/store で実行される。

Ⅳ-７、Ⅴ-７を使用している場合、メソッドが実行されたらすぐにインジェクションバルブを INJECT（２番）に設定します。

5章 実習例

RESOURCE S を用いた混合タンパク質の分離

実験； カラム　　RESOURCE S 1ml

サンプル　　BSA　（pI 4.7～4.9）
α-キモトリプシノーゲン A （ウシ膵臓由来、 pI 8.5）
リボヌクレアーゼ A （ウシ膵臓由来、 pI 9.0）
チトクロムC （ウマ心臓由来、 pI 10.1）
リゾチーム （ニワトリ卵由来 pI 11.0～11.4）
各 2.5 mg を 10 ｍｌの Buffer A に懸濁し、1 ml 添加する

Buffer A　　50 mM MES Buffer （pH 6.0）
Buffer B　　50 mM MES Buffe,1 M NaCl （pH 6.0）

流速　　2 ml/min

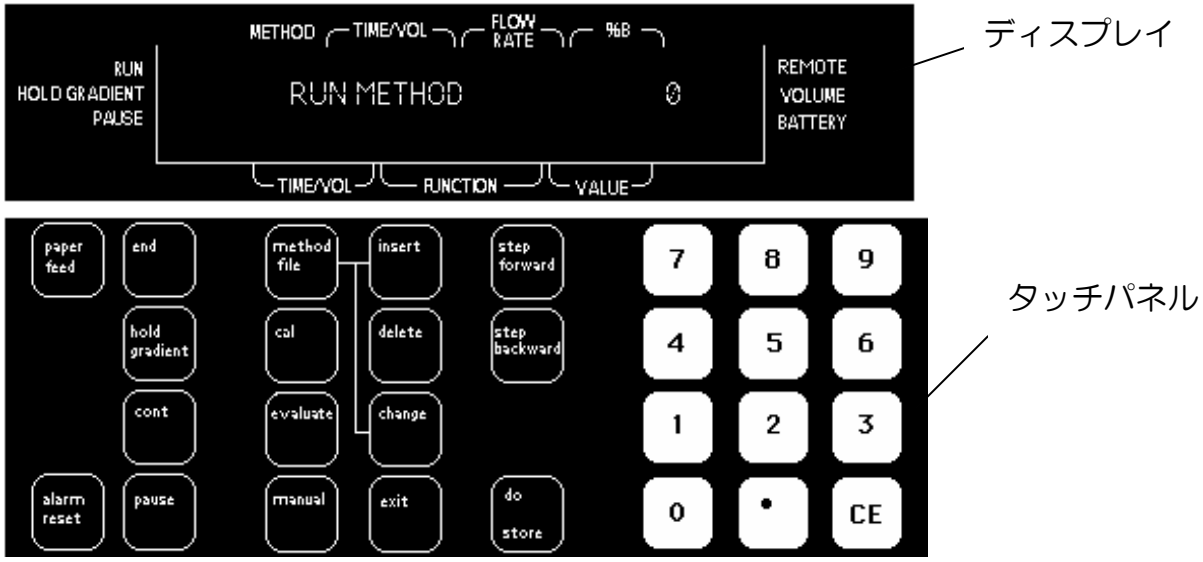
検出　　0.5 AUF

チャートスピード　　1.0 cm/ml

それぞれのサンプルを MES Buffer （pH 6.0）に懸濁すると
BSA は－に荷電し、その他のタンパク質は＋に荷電するので、
BSA 以外は陽イオン交換体である RESOURCE S カラムに結合します。
イオン強度が高い Buffer B を添加すると結合しているタンパク質が荷電の弱い順番に溶出します。

グラジェント勾配やカラムの種類を変えて溶出パターンの違いを確認してください。

付録1. GP 250 PLUSタッチパネル



タッチパネルの説明

最左列

paper Feed

レコーダーのチャート紙を送り出す

alarm reset

メソッドプログラムされた、または、チェックコードによるアラームの解除をする

このボタンを押すだけでアラームが解除されます。

例外：送液時に P-500 ポンプの圧力リミッターを超えてアラームがなるときには（ポンプ前面の左上側の Limit ボタンが点灯します）、ポンプの SET ボタンをおして、Limit を解除後、alarm reset ボタンを押してアラームを解除します。

左より２列目

end

メソッドあるいはマニュアルでの作動を停止する

end を押すと
1） ディスプレイ表示が“RUN METHOD 0”になる
2） すべてのコンポーネントの作動が停止する
- ポンプ停止、Conc %B 0
- レコーダー停止
- すべてのアウトポートは無効
- モーターバルブは１（Load）
- モニターのピーク検出用設定、ピーク閾値、オートゼロ設定の解除
- フラクションコレクター停止、試験管番号は１を表示

hold gradient

現在の各コンポーネントの作動を保持したまま、メソッドを先に進めない
A,B ポンプによるグラジェントが進行中であった場合、両ポンプの稼働率と流速が一定のまま保持される。

pause & cont

作動の一時停止および続行

左より３列目

method File, cal, evaluate, manual

それぞれ p32, p38, p47, p41 を参照

左より４列目

insert, delete, change

p24 を参照

exit

各ブロック内から出る

左より５列目

step forward & step backward

各ブロック内で機能やステップの選択を行うために使用する

do/store

メソッドの実行、数値の入力を行う

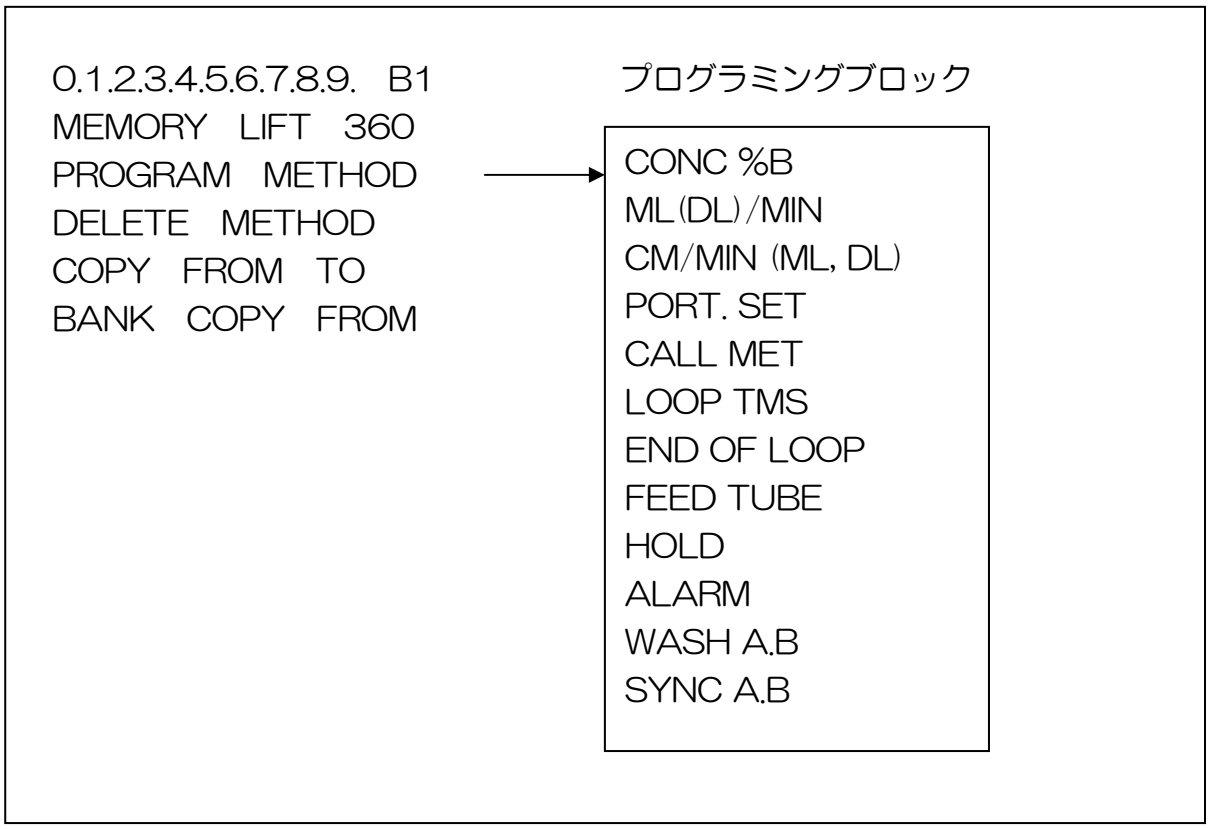
付録2. Method Fileブロック

Method File ブロックでは、溶出メソッドの作成、証拠、変更などを行います。

Method File ボタンを押してブロック内に入ります。ブロック内に入ったら、

Step Foward ボタンまたは Step backward ボタンで表示を変えます。

-Method File ブロックの内容-



0.1.2.3.4.5.6.7.8.9.　B1

バンクの選択を行います。

B の後の番号はバンク No を示します。

バンク番号(1～5)を入力後、do/store ボタンを押してください。

FPLC システムでは 5 つのバンク（B1～5）にそれぞれ 10 つ（0～9）のメソッド（計 50 個）を作成することができます。
選択したバンク内のメソッド番号（たとえば、2,7 番が既に使用されている場合には.
0.1. .3.4.5.6.　.8.9.　B1 のように使用されている番号は表示されません。

MEMORY　LIFT　360

コントローラーの残留記憶容量を示しています。

MEMORY Capacity は LCC 501 Plus コントローラーで 958

PROGRAM　METHOD

選択済みバンク中の空いているメソッド番号を選択します。

メソッド番号(0～9)を入力後、do/store ボタンを押してください。

・既に使用しているメソッド番号（0.1.2.3.4.5.6.7.8.9.　B1 ディスプレイ画面で消えているメソッド番号）を選択した場合
　　メソッド内容が最初から 1 つずつ示される。メソッドの編集
　　（p26 を参照）
・未使用のメソッド番号を選択した場合
　　メソッドの作成が可能（p23 を参照）。

DELETE　METHOD

メソッド内容の削除を行う

メソッド番号(0～9)を入力後、do/store ボタンを押す

COPY　FROM　TO

指定したメソッドの内容を同じバンク内の別のメッソドにコピーする

入力方法
COPY FROM TO　X.Y
X: コピー元メソッド番号　　Y: コピー先メソッド番号
ＸＹにそれぞれメソッド番号(0～9)を入力後、do/store ボタンを押す

メソッドの１部分だけを変更したプログラムを作成するときに便利です。

BANK　COPY　FROM

指定したメソッドの内容を異なるバンク内にコピーする

入力方法
BANK COPY FROM A.B
A: コピー元メソッド番号　　B: コピー元バンク番号
A.Bにそれぞれメソッド番号(0～9)を入力後、do/store ボタンを押す。
すると、BANK　COPY　TO という表示になる。

BANK COPY TO C.D
C: コピー先メソッド番号　　D: コピー先バンク番号
C.D にそれぞれメソッド番号(0～9)を入力後、do/store ボタンを押す。

メソッドの１部分だけを変更したプログラムを作成するときに便利です。

プログラミングブロックについて

CONC %B 、ML(DL)/MIN、CM/MIN (ML, DL)

PORT. SET　以上は p41(付録４ Manual ブロック)を参照

付録3. Calibrationブロック

Calibration ブロックでは各コンポーネントの検量値を入力します。この値は、一度入力すれば変更の無い限り毎回入力する必要はありません。
また、システムが作動しているときに検量値を変更することはできません。

Cal ボタンを押し、Calibration ブロック内に入ります。
ブロック内に入ったら、Step Forward ボタンまたは Step backward ボタンで表示を変えます。
入力方法：各検量値を入力後、do/store ボタンを押します。

Min.0　ML.1　DL.2

クロマトグラムのX軸の単位を入力する
ML にするのが妥当。DL モードは P-500 では使用不可
ML にするとディスプレイの Volume の横のランプが赤く点灯する

PUMP CAL AB

ＡＢポンプの検量値（0.1 ml 送液するのに必要なパルス数）の入力を行う
P-500：　110

REC CAL

レコーダーの検量値（チャート紙を 1 cm 進めるのに必要なパルス数）の入力を行う
弊社のレコーダーはすべて 200

CALIBRATE PUMP A

ポンプ A，B のいずれかでP-1 ポンプを使用するときに、検量を行う

CLEAR MEMORY

Calibration ブロックと,Method File ブロックで入力したすべての値、プログラム内容を消去し、初期設定の状態に戻す

441 と入力後、do/store ボタンを押す。

ディスプレイ表示は RUN METHOD になります。

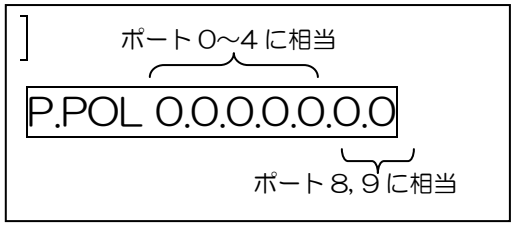
MIX VOLUME

ワンポンプグラジェントを行う際にスイッチバルブの切り替えによる混合容量の値の入力を行う

60 と入力後、do/store ボタンを押す。

P.POL 0.1.1.0.0.0.0

接続アウトポートの極性（＋またはー）を決定する



FPLC にはポートが 10 個(0～9)あります。このうち 5･6･7 番はフラクションコレクターの接続専用になっているため、０～４番、８～９番の７つのポートの極性設定をすることが可能です。（初期設定として、ポート１と２は＋に設定されています。

入力方法

P.POL 0.0.0.0.0.0.0. ＸＹ

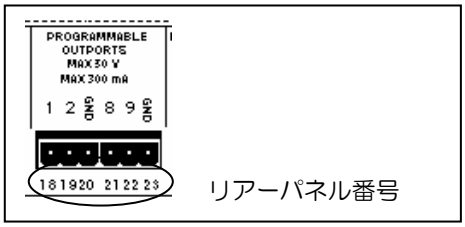
X: アウトポート番号（０～４，８～９） Ｙ：極性（１または ０［極性を＋にしたいときは１を、ーにしたいときは０を入力］）

入力後、do/store ボタンを押す。

3.1、8.1 とおすと、P.POL 0.0.0.1.0.1.0 という表示になります。

アウトポートとは

LCC501 Plus コントローラーはポンプ、レコーダー（以上は Start, Stop の設定のみ）、ソレノイドバルブ（PSV-50）を接続し、制御することができます。



リアーパネル番号

アウトポートは全部で 10 つ（0～9）番あり、このうち、5,6,7 はフラクションコレクター制御専用となっています。
アウトポートは極性（＋または－）の設定が可能（calibration ブロックの P.POL）ですが、PSV-50 バルブを接続する場合には、極性の設定は必要ありません。以下にアウトポートと相当するリアーパネル番号を示します

アウトポート番号	相当するリアーパネル番号	接続可能なコンポーネント
0	6	PSV-100 バルブ（5 へも接続が必要）
1	18	ポンプ、レコーダー*
2	19	同上
3	1, 2	PSV-50 バルブ
4	3, 4	PSV-50 バルブ
8	21	ポンプ、レコーダー*
9	22	同上

*Start, Stop の設定のみ。

付録4. Manualブロック

Manual ブロックでは、マニュアル操作で各コンポーネントを操作します。

Manual ボタンを押し、ブロック内に入ります。
ブロック内では、Step Forward、Step backward ボタンで表示を変えます。
入力方法：各値を入力後、do/store ボタンを押します。

CONC %B

↕ **ＡＢポンプ両方の稼働に対するＢポンプの稼働率を入力します**

ML (DL)/MIN

↕ **ＡＢポンプ合わせた流速を入力します**

CONC %B を 50 と入力し、ここで、1.0 と入力するとポンプ A, B が
それぞれ 0.5 ml（dl）ずつ合計 1.0 ml（dl）/min 流れます。

CM/MIN

↕ **レコーダーのチャート送り速度を入力します**

PT 0000000000

↕ **接続したアウトポートの ON, OFF を入力します**

FPLC にはポートが 10 個(0～9)あります。このうち 5･6･7 番はフラクションコレクターの接続専用で、残りの０～４番、８～９番の７つのポートがフリーになっています。

入力方法

PT 000000000000 X.Y
X: アウトポート番号（0～9） Y：ON, OFF（1 または 0［ON にしたいときは 1 を、OFF にしたいときは 0 を入力］）
入力後、do/store ボタンを押す。
5.1 とおすと、PT 0.0.0.0.0.1.0.0.0.0 という表示になります。

表 ポート 5.6.7 を ON にしたときの意味

入力値	意味
5.1	フラクションコレクターの PAUSE
6.1	フラクションコレクターのフラクション開始
7.1	フラクションコレクターのリサイクル （FRAC-200 のみ有効）

↕

WASH A.B

ＡＢポンプの洗浄を行う

A,B ポンプに P-500 を使用しているときにのみ有効。

約３分、35 ml 程度必要。

入力方法

WASH A.B　X.Y

X: A ポンプの洗浄指定（1 または 0［ON にしたいときは 1 を、OFF にしたいときは 0 を入力］）

Y: B ポンプの洗浄指定（1 または 0［ON にしたいときは 1 を、OFF にしたいときは 0 を入力］）入力後、do/store ボタンを押す。

注意！！

・WASH を行うと、最高流速で溶液が流れます。インジェクションバルブの位置を必ず**３番（WASH）にして行ってください**。カラムに溶液が流入し、圧力が上昇するのを防ぎます。

・WASH が行われているときには、PAUSE のモードに入り、他の命令を受けつけません。

FEED TUBE

フラクションコレクターのチューブを 1 本進める

SYNC A. B

ポンプシリンダーのピストンをシリンダーの先端まで進める

ポンプシリンダー1 本分（約 15 ml）体積で収まるグラジェントを行う時に、ピストンの切り替えが原因のグラジェントの乱れを無くすため、前もって実行しておく。

入力方法

SYNC A.B　X.Y

X: A ポンプの洗浄指定（1 または 0［ON にしたいときは 1 を、OFF にしたいときは 0 を入力］）

Y: B ポンプの洗浄指定（1 または 0［ON にしたいときは 1 を、OFF にしたいときは 0 を入力］）入力後、do/store ボタンを押す。

注意！！

SYNC の場合も、WASH と同様に、最高流速で溶液が流れます。インジェクションバルブの位置を必ず**３番（WASH）にして行ってください**。

付録5. Evalutaionブロック

evaluation ブロックでは、現在値の表示と、クロマトグラフィー終了後に認識されたピークデータの評価を行うことができます。

Ebaluation ボタンを押し、Evalutation ブロック内に入ります。
ブロック内に入ったら、Step Forward ボタンまたは Step backward ボタンで表示を変えます。

RETENTION

↕ メソッドをスタートさせてからの時間（容量）を表示する

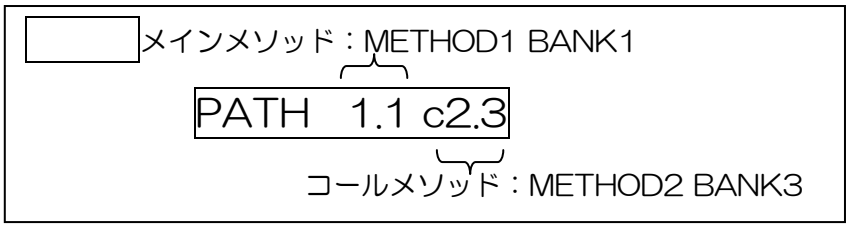
LOOP NO

↕ ループ（メソッドの繰り返し）を組んだメソッドを RUN させている場合に、現在、何回目のループが進行中かを表示する

PATH 0.0 c0.0 0.0

↕ メソッド RUN 中に、現在 RUN しているメソッドの番号を表示する

表示例



TUBE NO

↑ メソッド RUN 中に分取中の試験管番号を表示する